

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Kláry Papouškové
„Úloha Na^+/H^+ antiporterů plasmatické membrány ve fyziologii kvasinkových buněk“

V předložené disertační práci se Mgr. Klára Papoušková zabývá aktuálním tématem, jímž je úloha Na^+/H^+ antiporterů ve fyziologii kvasinek. Tématicky tato disertace navazuje a podstatným způsobem rozšiřuje výsledky pracovníků Oddělení membránového transportu FgÚ AV ČR, kde pod vedením Dr. Sychrové také vznikala. Disertace má formu souhrnu čtyř původních prací, z nichž tři práce již byly vydány a jedna je v tisku, který doplňuje rukopis práce zaslané k recenzi a kapitola s dosud nepublikovanými výsledky. Mgr. Klára Papoušková je kromě první zahrnuté publikace na dalších pracích vždy prvním autorem.

Spojujícím prvkem disertace je snaha rozšířit poznání Na^+/H^+ antiporterů z nepříbuzných a fylogeneticky vzdálených kvasinek tak, aby bylo možno porovnáním vlastností pochopit funkci těchto důležitých regulátorů ve fyziologii kvasinek. Celý soubor prací je uveden literární přehledem, který vychází z recentních prací, je velmi koncise zpracován a týká se zejména případů řešených v zahrnutých článcích. V úvodu disertace také nechybí přehled dílčích cílů, které v jejím rámci byly plněny.

První dílčí cíl byl splněn v úvodní publikaci, které je disertantka druhým autorem, a která se týká *in silico* analýzy sekvencí kvasinkových genů kódujících přenašeče kationtů alkalických kovů. Práce přináší řadu srovnání a je důležitých východiskem pro následné experimentální ověření mezidruhové podobnosti přenašečů. Vzhledem k zaměření a typu publikace by bylo vhodné při obhajobě zmínit podíl disertantky při získávání podkladů pro tuto publikaci a jejich zpracování.

Ve druhé zahrnuté práci zveřejněné v prestižním časopise *Gene*, které je Klára Papoušková prvním autorem, je řešena otázka identifikaci přenašeče typu Nha1 u kvasinky *Debaryomyces hansenii*. Autoři ukázali, že přenašeč typu Nha1 má u této kvasinky komplexní úlohu ve fyziologii, která se týká zejména detoxifikace a udržování stabilní vnitrobuněčné koncentrace draselných iontů.

Třetí práce, které je Klára také prvním autorem, se týká identifikace antiporterů v dimorfní kvasince *Yarrowia lipolytica* a porovnání jejich funkce s modelovou kvasinkou *S.cerevisiae*. Autoři ukázali, že identifikované antiportery *Y.lipolytica* se výrazně liší svou substrátovou afinitou. Tato rozdílnost se zřejmě odráží také v jejich odlišné funkci ve fyziologii buněk. Z této publikace také vyplynuly experimenty zahrnuté v kapitole 4.4, které ukázaly na zvýšení tolerance kmenů *S.cerevisiae* k přítomnosti NaCl v mediu v přítomnosti heterologní exprese genu *YINHA2*. Výsledky naznačily možnost využití heterologní exprese genu *YINHA2* pro zajištění zvýšené tolerance některých průmyslových kmenů *S.cerevisiae* a jsou součástí připravovaného rukopisu.

Klára Papoušková je prvním autorem také čtvrté zahrnuté publikace, která je v současné době v tisku a která se týká identifikace dvou antiporterů alkalických kovů s odlišnou substrátovou specificitou také u kvasinky *S.pombe*.

Rukopis páté publikace, kde je Klára opět prvním autorem a který byl odeslán k recenzi, se týká fenomenu, že spolupůsobení osmotického a teplotního stresu vede ke zlepšení růstu buněk *D.hansenii*.

V závěrečné kapitole jsou výsledky diskutovány ve vztahu k jejich přínosu pro další výzkum. Je zřejmé, že kromě publikačních výstupů jsou dosažené výsledky cenné i z perspektivy využití v průmyslových aplikacích. Disertace je ukončena krátkým dvoustránkovým souhrnem, ve kterém jsou v bodech uvedeny hlavní získané výsledky i jejich krátké ohodnocení.

Vzhledem k tomu, že většina prezentovaných výsledků ve formě rukopisů již úspěšně prošla recenzním řízením před zveřejněním, lze konstatovat, že podobně jako použitý experimentální přístup jsou dosažené výsledky na velmi dobré úrovni. Kromě první zahrnuté

publikace je podíl Mgr. Kláry Papouškové na prezentovaných výsledcích zřejmý již z prvních stran publikovaných prací.

K disertační práci mám následující dotazy:

- 1) Je zřejmé, že pro buněčnou expanzi kvasinek polarizovaným růstem je nezbytná dostatečná hladina vnitřního tlaku „turgoru“. Co je známo o propojení Na^+/H^+ antiporterů s mechanismy kontroly buněčného cyklu a buněčné expanze?
- 2) Existuje vztah mezi antiportery plazmatické membrány a membrány vakuol?
- 3) Je známa rychlost obměny (turnoveru) Na/K antiporterů plazmatické membrány? Je známý mechanismus této obměny?

Závěr: Disertační práce Mgr. Kláry Papouškové má vysokou úroveň a svou kvalitou nepochybně přesahuje běžný standard. Autorka prokázala dobrý přehled o odborné literatuře. V prezentovaných publikacích je aplikováno široké spektrum technik. Výsledky obsažené v disertační práci lze přiřadit ke špičkovým poznatkům molekulární buněčné biologie kvasinek. Disertační práce má všechny potřebné formální náležitosti a vyhovuje kritériím, která jsou kladena na doktorskou disertační práci. Práci doporučuji k obhajobě.